

AUS DER KLINIK FÜR ALLGEMEIN-, VISZERAL-,
TRANSPLANTATIONSCHIRURGIE
DER LUDWIG-MAXIMILIANS-UNIVERSITÄT ZU MÜNCHEN
DIREKTOR: PROF. DR. MED. J. WERNER

VERBESSERUNG DES LANGZEITÜBERLEBENS TRANSPLANTierter
SOLIDER ORGANE. VON „BENCH“ UND „BEDSIDE“.

HABILITATIONSSCHRIFT
FÜR DAS FACH CHIRURGIE
DER MEDIZINISCHEN FAKULTÄT
VORGELEGT VON DR. MED. MICHAEL N. THOMAS

2016

I. Einleitung

II. Teilprojekte und Signifikanz

II. 1. Arbeiten zur Verbesserung des Langzeitüberlebens transplantierte solider Organe von „bench“

II. 1.1. Blockade of p38 MAPK inhibits chronic allograft vasculopathy

II. 1.2. SDF-1/CXCR4/CXCR7 is pivotal for vascular smooth muscle cell proliferation and chronic allograft vasculopathy

II. 1.3. Heme-oxygenase-1, carbon monoxide, and bilirubin induce tolerance in recipients towards islet allografts by modulating T regulatory cells.

II. 1.4. Bilirubin promotes de novo generation of T-regulatory cells

II. 1.5. Intraoperative administration of inhaled carbon monoxide reduces delayed graft function in kidney allografts in swine

II. 2. Arbeiten zur Verbesserung des Langzeitüberlebens transplantierte solider Organe von „bedside“

II. 2.1. Impact of surgical training and surgeon's experience on early outcome in kidney transplantation

II. 2.2. Loss of liver transplant surgeons into alternate career paths

II. 2.3. A german survey of the abdominal transplantation surgical work force

III. Zusammenfassung

IV. Literatur

V. Originalarbeiten

I. Einleitung:

Die Transplantationschirurgie hat in den vergangenen Jahrzehnten signifikante Fortschritte durchlaufen und kann mittlerweile als Standardtherapie für irreversible Organschädigungen angesehen werden. Trotzdem bleibt sie hinter ihrem ausgerufenen Ziel, eine Langzeittherapie für diese Patienten darzustellen, zurück. Dank Fortschritten bei der immunsuppressiven Therapie sowie bei den Konservierungsverfahren der zu transplantierenden Organe konnten die kurzfristigen Ergebnisse nach Transplantation entscheidend verbessert werden (19). Hingegen konnte das Langzeitüberleben transplantiert Organe nicht entscheidend verlängert werden (7, 18). So stieg das Transplantatüberleben postmortal entnommener Nieren lediglich von 6.6 Jahren auf 8.8 Jahre in einem Zeitraum von 16 Jahren in den USA (15). Ähnliche Resultate konnten für das Transplantatüberleben von Lungen, Lebern, Pankreas und Herzen gezeigt werden (7, 32, 43)

Der Organverlust in der Spätphase nach erfolgter Transplantation ist gekennzeichnet durch eine schleichende Funktionsverschlechterung des transplantierten Organs. Hierbei zeigen sich je nach Organ unterschiedliche Veränderungen, die ursächlich für den Funktionsverlust sind (17). In transplantierten Herzen kommt es zu einer zunehmenden Verengung der Koronararterien durch die Bildung einer Neointima, bestehend aus glatten Gefäßmuskelzellen, welche langfristig zu einer Minderperfusion des transplantierten Organs führt (27). Diese Veränderungen werden als Transplantatvaskulopathie (TVP) bezeichnet. Vergleichbare Veränderungen lassen sich auch in Proben von Nieren und Lungentransplantaten nachweisen (17).

5 Jahre nach erfolgter Transplantation kann man TVP-spezifische Veränderungen in 30% der Herztransplantatempfänger nachweisen (5, 35) . Transplantatversagen durch TVP wird für 30% der Todesfälle nach erfolgter Transplantation verantwortlich gemacht (5).

Das vorherrschende Merkmal der TVP stellt die zunehmende Verdickung der arteriellen Intima (Neointima) dar, welche sich konzentrisch in allen Gefäßen des transplantierten Organs entwickelt (46).

Sowohl immunologische Faktoren als auch nicht-immunologische Faktoren wie Alter, Geschlecht, Hirntod, CMV-Infektion, Hypercholesterinämie spielen eine wichtige Rolle in der Pathophysiologie der TVP (3).

Der genaue Mechanismus der Entstehung der TVP bleibt indessen bis heute ungeklärt. Es ist jedoch bekannt, dass sowohl Empfänger- als auch Spenderzellen bei der Pathophysiologie beteiligt sind (42). Somit konnte gezeigt werden, dass sich pluripotente Stammzellen sowie endotheliale Vorläuferzellen des Empfängers nach erfolgter Transplantation in den Gefäßwänden der Transplantate ansiedeln und, bedingt durch eine dauerhafte Stimulation durch einen persistierenden immunologischen Reiz, beginnen zu proliferieren (47). Zusätzlich kommt es zu einer Proliferation intimaler sowie medialer glatter Gefäßmuskelzellen des Spenders und somit zu einer Formation der Neointima in den Gefäßen der Transplantate (1).

In zwei Teilprojekten dieser kumulativen Habilitationsschrift haben wir uns mit den möglich protektiven Effekten einer p38- bzw. SDF-1-Inhibierung in Bezug auf die Entstehung von TVP beschäftigt (22, 38).

Die Hämoxygenase-1 (HO-1) hat zytoprotektive Eigenschaften. Sie ist das geschwindigkeitsbestimmende Enzym im Häm-Katabolismus und konvertiert Häm zu freiem Eisen, Kohlenmonoxid und Biliverdin (49). Diese Produkte zeigen antioxidative, antiapoptotische, antiproliferative, immunmodulatorische und antiinflammatorische Eigenschaften und wurden bereits in einer Vielzahl von transplantationsassoziierten Pathologien getestet (23, 31).

In drei Teilprojekten dieser kumulativen Habilitationsschrift wurden sowohl die organprotektiven Effekte einer intraoperativ verabreichten Kohlenmonoxidtherapie in einem Großtier-Nierentransplantationsmodell (9) sowie die immunmodulatorische Wirkung auf T-regulatorische Zellen (T-regs) durch eine Bilirubin- und Kohlenmonoxidkombinationstherapie von Mäusen nach erfolgter allogener Inselzelltransplantation (16, 25) getestet.

Die Transplantationsmedizin hat in den vergangenen Jahrzehnten eine Evolution vom experimentellen Feld chirurgischer Pioniere zu einer Standardtherapie für irreversible Organversagen durchlaufen. Während andere Länder (USA, Kanada, UK) diesen Wandel ebenfalls mit klinischen Transplantationsprogrammen unter Einschluss von eigenen Weiterbildungscurricula und entsprechenden Endpositionen begleitet haben, stellt die Transplantationschirurgie in Deutschland weiterhin eine weniger anerkannte Subspezialisierung der Allgemein- und Viszeralchirurgie dar.

Durch den hierdurch bedingten Mangel an attraktiven Endpositionen kommt es zu einer zwangsläufigen Abwanderung von voll ausgebildeten Chirurgen aus dem Feld der Transplantationschirurgie. In Zeiten steigender Zahlen auf den nationalen Wartelisten und im Gegenzug stagnierender Zahlen verfügbarer Organe hirntoter Spender (29) werden die Ansprüche an die Transplantationszentren jedoch zunehmend mit einer steigenden Spezialisierung verknüpft (12). Insbesondere durch die zunehmende Verwendung marginaler Organe sowie durch die Etablierung von Lebendspendeprogrammen steigen somit die Anforderungen an den Transplantationschirurgen sowohl im operativen Feld als auch in der postoperativen Betreuung und dem Komplikationsmanagement.

Eine zusätzliche Herausforderung neben der Bindung von ausgebildeten Chirurgen an das Feld der Transplantationschirurgie stellt die adäquate Ausbildung von jungen Chirurgen dar. Gerade in Zeiten eines drohenden Nachwuchsmangels des gesamten chirurgischen Faches (48) müssen hier junge Chirurgen frühzeitig an die Transplantationschirurgie gebunden und ausgebildet werden. Aktuell stehen in Deutschland weder strukturierte Ausbildungsprogramme noch ausreichend attraktive Endpositionen in der Transplantationschirurgie zur Verfügung. In drei klinischen Arbeiten dieser kumulativen Habilitationsschrift hat sich der Autor mit der Arbeitswelt der Transplantationschirurgie auseinandergesetzt und erstmals Daten über Spezialisierungsgrad und Qualifikation der in Deutschland tätigen Transplantationschirurgen geliefert (36, 37, 39).

II. Teilprojekte und Signifikanz:

Heutzutage wird die Transplantation solider Organe als klinischer Standard für die Therapie irreversibler Organversagen angesehen.

Insbesondere durch signifikante Weiterentwicklung auf dem Gebiet der Immunosuppression konnten deutliche Verbesserungen des initialen Transplantatüberlebens erreicht werden. 1-Jahres Transplantatüberleben von bis zu 90% sind heutzutage Routine (6). Im Gegensatz hierzu konnte das Langzeitüberleben von transplantierten Organen jedoch nicht in gleicher Weise verbessert werden (15).

Insbesondere das Auftreten des chronischen Transplantatversagens muss man als eine noch nicht beherrschte Komplikation des Transplantationsprozesses betrachten. Das klinische Bild der chronischen Abstoßung stellt sich je nach transplantiertem Organ unterschiedlich dar. Gemeinsam ist allen jedoch eine zunehmende Funktionsverschlechterung des Transplantats, bedingt durch ischämische Schädigung aufgrund einer zunehmenden Minderperfusion, die ihrerseits auf die Bildung einer Neointima der zuführenden Gefäße zurückgeht. Diese Neointima besteht in erster Linie aus glatten Gefäßmuskelzellen. Im transplantierten Herzen spricht man bei diesen Veränderungen von einer chronischen Transplantatvaskulopathie.

In zwei Arbeiten dieser kumulativen Habilitationsschrift habe ich mich mit dem zugrundeliegenden Pathomechanismus der Transplantatvaskulopathie beschäftigt und durch selektive Blockade von zwei Mediatoren, die in diesem Prozess wirksam sind, eine signifikante Besserung der mit der Transplantatvaskulopathie einhergehenden Veränderungen in einem Mausmodell chronischer Transplantatvaskulopathie erzielt. Die eingesetzten Substanzen finden sich aktuell in klinischer Testung für den humanen Einsatz (34).

Die Immuntoleranz eines Empfängers für ein transplantiertes Organ ist das ausgeschriebene Endziel der Transplantationsmedizin (41). In zwei Teilprojekten dieser kumulativen Habilitationsschrift wurden die immunmodulatorischen Eigenschaften einer Kohlenmonoxid- und Bilirubintherapie in einem Inselzelltransplantationsmodell der Maus getestet (16, 25). Durch die Kombination von Kohlenmonoxid- und Bilirubintherapie konnte ein

Langzeitüberleben der transplantierten Inselzellen erzielt werden. Hierbei zeigte sich, dass dieser Effekt insbesondere durch eine modulatorische Wirkung auf T-regs erzielt wird und eine Bilirubintherapie zu einer de-novo-Bildung von T-regs führt. Diese ist für die mit der Therapie einhergehende Toleranzentwicklung verantwortlich.

In einem weiteren Teilprojekt wurde die zuvor in einem Kleintiermodell getestete organprotektive intraoperative Gabe von Kohlenmonoxid in einem Großtiermodell angewandt. Durch die intraoperative Gabe von Kohlenmonoxid in einem Nierentransplantationsmodell des Schweines mit einer kalten Ischämiezeit von 24h wurde eine deutliche Reduktion des Auftretens einer verzögerten Transplantatfunktion (delayed graft function) erzielt (9).

In einem zweiten, klinischen Teil der vorgelegten Habilitationsschrift habe ich mich mit der chirurgischen Arbeitswelt des Transplantationschirurgen in Deutschland beschäftigt.

Die Evolution der Transplantationsmedizin zu einer Standardtherapie irreversiblen Organversagens wurde in einigen Ländern (USA, Kanada, Großbritannien) durch die Einrichtung von spezifischen strukturierten Trainingsprogrammen sowie einer formellen Spezialisierung als Transplantationschirurg begleitet. In Deutschland stellt die Transplantationsmedizin jedoch weiterhin eine Sub-Domäne der Viszeralchirurgie dar. Die transplantationschirurgische Ausbildung findet hier neben der viszeralchirurgischen Gesamtausbildung statt. Um eine strukturiertere Ausbildung zu gewährleisten, wurde am Klinikum Großhadern im Rahmen eines Pilotprojektes ein Transplantations-Fellowship nach nordamerikanischem Vorbild etabliert (8). Der Autor analysierte hier die Effekte einer frühzeitigen intraoperativen Ausbildung junger Chirurgen an Nierentransplantationen auf das Auftreten intraoperativer und postoperativer Komplikationen sowie kurzfristiger postoperativer Qualitätsmerkmale (37).

Eine weitere Arbeit analysierte die Karrieren von 25 Transplantationschirurgen an einem repräsentativen Lebertransplantationsprogramm in Deutschland (36). Hierbei zeigte sich, dass durch den Mangel an entsprechenden Endpositionen eine Vielzahl von voll ausgebildeten Lebertransplantationschirurgen der Transplantationschirurgie den Rücken kehren und alternative Karrierepfade einschlagen. Der hierdurch bedingte ständige „Brain-Drain“ aus der

Transplantationschirurgie könnte mit einem Qualitätsverlust einzelner Programme einhergehen. Er spiegelt ein strukturelles Problem der Transplantationsmedizin in Deutschland wider. Diese Arbeit legte den Grundstein für eine nationale Umfrage zur Arbeitswelt der Transplantationschirurgie in Deutschland (39).

Dank dieser Umfrage wurden zum ersten Mal Daten zu einem Gesamtbild der in Deutschland tätigten Transplantationschirurgen geliefert. Diese Daten könnten bei der Einrichtung der seit langem geforderten „Zusatzweiterbildung Transplantationsmedizin“ hilfreich sein.

II. 1. : Arbeiten zur Verbesserung des Langzeitüberlebens transplantierte solider Organe von „bench“

II. 1.1.: Blockade of p38 MAPK inhibits chronic allograft vasculopathy:

Die chronische Transplantatvaskulopathie ist gekennzeichnet durch die Entstehung einer konzentrischen Arteriosklerose-ähnlichen Gefäßwandveränderung (Neointima) in den Arterien der Transplantate. Diese besteht in erster Linie aus glatten Gefäßmuskelzellen und führt durch eine zunehmende Lumeneinengung zu einer irreversiblen Minderperfusion des transplantierten Organs mit konsekutivem Organverlust. Zum jetzigen Zeitpunkt fehlen Therapiestrategien, um diesen Prozess zu verhindern bzw. aufzuhalten. Da die mitogen aktivierte Proteinkinase p38 eine zentrale Rolle in der Proliferation glatter Gefäßmuskelzellen spielt, habe ich in einem Tiermodell chronischer Transplantatvaskulopathie die Effekte einer selektiven Blockade von p38 erforscht.

In Vorarbeiten konnte gezeigt werden, dass die mitogen aktivierte Proteinkinase (MAPK) p38 eine zentrale Rolle in der Proliferation glatter Gefäßmuskelzellen spielt (21). Aus diesem Grund testeten wir die Effekte einer pharmakologischen p38-Inhibierung in einem Mausmodell chronischer Transplantatvaskulopathie.

Diesbezüglich wurden Aorten in die A. carotis communis allogener Empfängertiere transplantiert. Kontrolltiere entwickelten innerhalb von vier Wochen nach erfolgter Transplantation eine ausgeprägte Neointima.

Immunhistochemische Färbungen für SM22 zeigten, dass diese Formationen vornehmlich aus glatten Gefäßmuskelzellen bestanden und p38 durch Phosphorylierung aktiviert und hochreguliert wurde.

Durch die Therapie der Empfängertiere über einen Zeitraum von 4 Wochen mit einem spezifischen p38-Inhibitor- SB-239063 - wurde eine signifikante Reduktion der Neointimaformation in den Spenderarterien erzielt (22).

II. 1.2: SDF-1/CXCR4/CXCR7 is pivotal for vascular smooth muscle cell proliferation and chronic allograft vasculopathy

Die Herkunft der die Neointima bildenden glatten Gefäßmuskelzellen wurde in der Vergangenheit kontrovers diskutiert (1, 10, 42). Mittlerweile verdichten sich jedoch die Hinweise, dass sowohl pluripotente Stammzellen des Empfängers als auch residuale glatte Gefäßmuskelzellen der Media/Intima des Spenders an der Entstehung der Neointima in den Gefäßen beteiligt sind (42).

Stromal-derived-cell-factor 1 (SDF-1) ist ein potentes Chemokin der CC-Familie, welches seine Effekte durch Bindung an die Chemokinrezeptoren CXCR4 und CXCR7 vermittelt. SDF-1 spielt eine Schlüsselrolle in der Mobilisierung und zielgerichteten Wanderung pluripotenter Stammzellen (14). Mehrere Arbeiten haben die zentrale Rolle der SDF-1/CXCR4- Interaktion in der Rekrutierung und Proliferation glatter Gefäßmuskelzellen nach mechanischer Schädigung der Gefäßwand gezeigt (30). Hierbei konnte die entstehende Neointima durch eine spezifische SDF-1- Blockade signifikant reduziert werden (50). Aus diesem Grund habe ich in einer experimentellen Arbeit den Effekt einer selektiven SDF-1 Blockade in einem Mausmodell chronischer Transplantatvaskulopathie erforscht.

Für dieses Versuchsvorhaben wurde ein Spiegelmer Nox-A12, das spezifisch SDF-1 bindet und antagonisiert (11) verwendet. Spiegelmere sind aus unnatürlichen L-Ribonukleotiden aufgebaut und können ihr Zielmolekül im nanomolaren Bereich binden. Die Funktion der Spiegelmere ähnelt somit der eines Antikörpers. Durch die Verwendung von unnatürlichen L-Ribonukleotiden zeigen Spiegelmere jedoch keine Antigenität, wohl aber eine hohe Biostabilität, da sie von natürlich vorkommenden Nukleasen nicht abgebaut werden können (11).

Für das Versuchsvorhaben wurden zwei etablierte, murine Modelle chronischer Transplantatvaskulopathie verwendet: ein allogenes zervikales Aortentransplantationsmodell sowie ein allogenes heterotopes Herztransplantationsmodell der Maus.

In beiden Modellen entwickelte sich in den Kontrolltieren die für die TVP typische, konzentrische Neointima. Durch eine 2- tägige intraperitoneale Injektion des Spiegelmers NOX-A12 in einer Dosis von 15.5 mg /kg wurde eine signifikante Reduktion der Neointimaformation

im Vergleich zu den Kontrolltieren erzielt. Dieses Ergebnis ließ sich einerseits durch einen direkten antiproliferativen Effekt auf glatte Gefäßmuskelzellen sowie andererseits durch eine Reduktion pro-fibrotischer Cytokine in den transplantierten Aorten/Herzen erklären. Zusätzlich zeigte sich eine signifikant reduzierte Infiltration durch CD3+- Zellen der Adventitia des Transplantats.

II. 1.3: Heme-oxygenase-1, carbon monoxide, and bilirubin induce tolerance in recipients towards islet allografts by modulating T regulatory cells.

Ein Hauptproblem der Inselzelltransplantation stellt das Auftreten akuter Abstoßungsepisoden dar. Um dem entgegen zu wirken, werden eine Vielzahl von immunsuppressiven Medikamenten eingesetzt, welche zum Teil signifikante Nebenwirkungen aufweisen.

Bereits in Vorarbeiten wurde nachgewiesen, dass durch die Induktion einer HO-1-Expression bzw. durch Gabe der während des Hämekatabolismus entstehenden Produkte an den Spender, die Inselzellen oder den Empfänger häufig ein Langzeitüberleben der transplantierten Inselzellen erzielt werden konnte (44, 45).

Ziel dieser Arbeit war es, den zugrundeliegenden Mechanismus einer so erzielten Toleranz zu erforschen sowie den Effekt einer solchen Therapie in einer noch stärkeren immungenetischen Kombination (Balb/c auf C57BL/6) zu testen.

Für die Transplantationsversuche wurde in Empfängermäusen mittels Streptozotocintherapie Diabetes induziert. Die Spendertiere wurden vor der Isolation der Inselzellen entweder mit Kobaltprotoporphyrin (COPP) (20mg/kg), CO (250ppm für 1 Stunde) oder Bilirubin (20µmol/kg) vorththerapiert. Nach Isolation wurden die gewonnenen Inselzellen unter die Nierenkapsel der diabetischen Empfänger transplantiert.

Im Anschluss daran erfolgten Blutzuckermessungen der Empfängertiere. Im Falle von 2 aufeinanderfolgenden Messungen von Blutzuckerwerten von >300 mg/dl nach initial normoglykämischen Werten wurde das Transplantat als abgestoßen gewertet.

Die alleinige Therapie des Spenders mit COPP und Bilirubin führte zu einem signifikant besseren Überleben der transplantierten Inselzellen als bei der Kontrollgruppe (40.6 d (COPP) vs. 31.33 d (BR) vs. 20.86 d (Ctr)).

Aufgrund dieser positiven Ergebnisse testeten wir im Weiteren den Effekt einer Kombinationstherapie von Spender und Empfänger. Dabei konnte gezeigt werden, dass durch eine Kombinationstherapie das beste Langzeitergebnis erzielt wird. Hierbei wurden die Empfängertiere am Tag vor der Spende mit 20mg/kg COPP therapiert. Zwei Stunden vor Inselzellisolation wurden die Spender 250ppm CO ausgesetzt. Im Anschluss erfolgte eine Inselzellisolation in CO-angereichertem Medium für drei Stunden. Die Empfänger wiederum wurden täglich für eine Stunde 250ppm CO ausgesetzt und erhielten zwei Injektionen von 20µmol/kg Bilirubin/d von Tag 1 bis Tag 13 nach Transplantation. Durch dieses Therapieprotokoll konnte in 3/5 Tieren ein Transplantatüberleben von >100 Tagen erzielt werden. Eine Toleranztestung erfolgte in einem weiteren Schritt durch die Explantation der Inselzell-tragenden Niere der langzeitüberlebenden Empfänger und einer erneuten Injektion von Inselzellen des syngeneten ersten Spenders (Balb-c). Auch die zweiten Transplantate zeigten ein Langzeitüberleben (>100 Tage) ohne weitere Therapie.

Real-time PCR (RT-PCR) zeigte eine deutlich gesteigerte Expression von Foxp3 in den Inselzellen und Milzen der Empfängertiere mit Transplantaten, welche zu den Langzeitüberlebenden zählten. Immunhistochemische Färbungen mittels Anti-Foxp3-Antikörpern und Anti-Insulin-Antikörpern zeigten 7 Tage nach Transplantation signifikant mehr positiv angefärbte Zellen in der Kombinationstherapie-Gruppe als in der Kontrollgruppe (8.38% vs 4.28% (n=3)). Diese Ergebnisse beweisen, dass die durchgeführte Kombinationstherapie eine Migration bzw. *de-novo*-Generation von T-reg-Zellen am Ort der Inselzelltransplantate erzielte. Diese T-reg-Zellen könnten die Aktivität der alloreaktiven T-Zellen inhibieren und somit die Zellen gegenüber Abstoßungsepisoden schützen.

II. 1.4: Bilirubin promotes de novo generation of T-regulatory cells

Wie in Vorarbeiten gezeigt wurde (44), kommt es durch eine Bilirubin-Therapie des Spenders zu einer Verbesserung des Überlebens von Inselzelltransplantaten sowie einer Toleranzentwicklung am ehesten durch die Modulation von regulatorischen T-Zellen (T-regs). Die Aktivierung von HO-1 ist unverzichtbar für die Entwicklung und Funktion von T-regs (2, 4). Da Bilirubin als Produkt der HO-1-Aktivität in seinen Effekten HO-1 ähnelt, wurde die Hypothese gestellt, dass die beobachtete Toleranzentwicklung durch eine Bilirubintherapie ebenfalls über eine Modulation der T-regs erzielt wird.

Diesbezüglich wurde in einem allogenen Inselzelltransplantationsmodell der Maus (Balb/c auf C57BL/6) der Empfänger mit Bilirubin (20µg/kg 2x/d i.p.) bzw. Kohlenmonoxid (250ppm für 1 h/d) bzw. einer Kombinationstherapie aus Bilirubin (20µg/kg 2x/d i.p.) und Kohlenmonoxid (250ppm für 1 h/d) therapiert - nach vorheriger Diabetes-Induktion durch die Gabe von Streptomycin an den Empfänger. Ohne weitere Therapie überlebten die transplantierten Inselzellen im Mittel 19.3 Tage (±3.4 Tage). Durch die Bilirubintherapie verlängerte sich das mittlere Transplantatüberleben auf 40.6 Tage (±18.3 Tage). Die tägliche Exposition des Empfängers für eine Stunde in der Kohlenmonoxidkammer mit 250ppm CO führte zu einem mittleren Transplantatüberleben von 30.1 Tagen (±8.1 Tage). Eine Kombinationstherapie mit Bilirubin und Kohlenmonoxid hingegen führte bei 50% der Empfänger zu einer Toleranzentwicklung mit einem Transplantatüberleben von >100 Tagen ohne weitere Therapie. Antigen-spezifische Toleranz-Entwicklung wurde durch eine erneute Transplantation von Inselzellen des gleichen Spenders in Empfängern geprüft, die >100 Tage eine gute Transplantatfunktion zeigten.

Immunhistochemische Färbungen von Inselzelltransplantaten zeigten im Vergleich zur Kontrollgruppe an Tag 7 und Tag 14 nach erfolgter Transplantation eine deutlich gesteigerte Menge an Foxp3-positiven Zellen, welche die Inselzellen umgaben. Dies weist hin auf eine zentrale Rolle der Treg-Zellen beim protektiven Effekt der Bilirubintherapie.

Um dies zu verifizieren, erfolgte eine Vortherapie der Empfänger mittels anti-CD25- Antikörpern vor Inselzelltransplantation. Bei den so therapierten Empfängern kam es bereits am Tag 20 (± 3.4 Tage) zu einer Abstoßung. Vergleichbare Ergebnisse zeigten nun auch Empfänger, die mit Bilirubin behandelt wurden (mittleres Transplantatüberleben von 20.1 Tagen (± 4.1 Tage)).

In weiteren Versuchen wurde geprüft, ob die durch eine Bilirubin- und Kohlenmonoxid-Therapie generierten Treg-Zellen für eine Toleranzentwicklung ausreichen. Diesbezüglich führten wir Hauttransplantationen in Kombination mit einem adoptiven Zelltransfer verschiedener Zellpopulationen in Rag 1 $^{-/-}$ Empfängern durch. CD4⁺CD25⁺-Teff Zellen (1×10^5) naiver Mäuse sowie CD4⁺CD25⁺-Treg Zellen (1×10^5) naiver bzw. toleranzinduzierter Mäuse wurden Rag 1 $^{-/-}$ Empfängern koinjiziert. Im Anschluss erfolgte 24h nach adoptivem Zelltransfer eine Hauttransplantation entweder des vorherigen Inselzelltransplantationsspenders (Balb/c) oder eines weiteren Spenders (DBA/1). Der Transfer von CD4⁺CD25⁺-Teff-Zellen allein führte zu einer schnellen Abstoßung der Hauttransplantate von Balb/c und DBA/1- Spendern (11.6 ± 0.6 Tage respektive 15.4 ± 1 Tag). Der Transfer von CD4⁺CD25⁺-Treg Zellen naiver Mäuse führte zu einem leicht verlängerten Überleben der Hauttransplantate von Balb/c respektive DBA/1-Spendern (19.1 ± 5.1 respektive 15.4 ± 7.1 Tage). Der Ko-Transfer hingegen von Teff- Zellen von naiven sowie Treg- Zellen von toleranzinduzierten Mäusen führte zu einem Langzeitüberleben der Hauttransplantate von Balb/c- Mäusen, während DBA/1- Hauttransplantate frühzeitig abgestoßen wurden. Daraus lässt sich schlussfolgern, dass die durch eine CO- und Bilirubin-Therapie erzeugten Treg-Zellen für die Toleranzentwicklung beim Empfänger ausreichen.

II. 1.5: Intraoperative administration of inhaled carbon monoxide reduces delayed graft function in kidney allografts in swine

In Vorversuchen wurde nachgewiesen, dass durch die intraoperative Gabe von Kohlenmonoxid in Kleintiertransplantationsmodellen ein organprotektiver Effekt erzeugt wird. Er wird induziert durch eine signifikante Reduktion des auftretenden Ischämie-Reperfusionsschadens (20).

Aufgrund des Zusammenhangs zwischen dem Ischämie- Reperfusionsschaden und dem Auftreten von verzögerter Organfunktion nach erfolgter Nierentransplantation sowie den zytoprotektiven Effekten einer Kohlenmonoxidtherapie testeten wir den Effekt einer intraoperativen Kohlenmonoxidtherapie in einem an die klinische Realität angelehnten Nierentransplantationsmodell im Großtier.

Vor Explantation und Perfusion mit 4°C kalter University- of- Wisconsin-Lösung (UW) wurden die Nieren einer warmen Ischämiezeit zw. 45 und 120 Minuten ausgesetzt, indem die Aorta der Spendertiere geklemmt wurde. Im Anschluss erfolgten die Explantation und die Lagerung der entnommenen Nieren in 4°C kalter UW-Lösung für insgesamt 24h. Die entnommenen Nieren wurden in bilateral nephrektomierte Empfängertiere transplantiert. Die Therapiegruppe erhielt Kohlenmonoxid in einer Dosierung von 2-3mg/kg für insgesamt 1 Stunde zum Zeitpunkt des Hautschnitts mittels eines speziell entwickelten Ventilators (Covox).

Im Rahmen der Vorversuche stellte sich eine warme Ischämiezeit von 60 Minuten mit einer anschließenden kalten Ischämiezeit von 24h als ideales Modell für den gewünschten Effekt heraus.

Die intraoperative Gabe von Kohlenmonoxid zeigte keinen Effekt auf den frühen Ischämie-Reperfusionsschaden, wie der Verlauf der gemessenen Kreatinin- und Harnstoffwerte zeigte. Kohlenmonoxid-therapierte Tiere zeigten jedoch ab Tag 3 eine signifikant bessere Nierenfunktion mit Rückgang der Retentionswerte auf nahezu Normalwerte, während die Kontrolltiere erhöhte Retentionswerte aufwiesen. Immunhistochemische Färbungen der transplantierten Nieren zeigten eine ausgeprägte akute tubuläre Nekrose (ATN). Durch die intraoperative Gabe von CO konnte diese signifikant gemindert werden.

Weitere in-vitro-Versuche zeigten, dass durch eine CO-Therapie - in ähnlicher Dosierung wie der in vivo verwendeten - von Schweinenierenepithelzellen in einem Anoxie-Reoxygenierungsversuch eine signifikante Reduktion des Zelltodes erzielt werden konnte. Zusätzlich führte eine CO-Therapie von Schweinenierenepithelzellen zu einer signifikanten Proliferation dieser Zellen.

II. 2. Arbeiten zur Verbesserung des Langzeitüberlebens transplantierte solider Organe von „bedside“

II. 2.1: Impact of surgical training and surgeon's experience on early outcome in kidney transplantation.

Die Nierentransplantation stellt die Therapie der Wahl bei terminaler Niereninsuffizienz dar (26). Transplantierte Patienten zeigen im Langzeitverlauf im Vergleich zu Patienten, die an der Dialyse verbleiben, eine deutlich geringere Mortalität (40). Jedoch muss bei Transplantationsempfängern ein initialer Anstieg der Mortalität und Morbidität in der perioperativen Phase einkalkuliert werden (40).

Neben patientenassoziierten Co-Morbiditäten spielen chirurgische Komplikationen hier eine entscheidende Rolle (24). In verschiedenen Arbeiten gelang der Nachweis, dass die Erfahrung des Chirurgen eine signifikante Rolle in der Inzidenz postoperativer Komplikationen spielt (28). Demgegenüber steht die Notwendigkeit, junge Chirurgen auszubilden. Aktuell stehen hierfür eine Vielzahl an virtuellen Trainingslaboren zur Verfügung, die hilfreich eingesetzt werden können (33). Allerdings ersetzen auch die komplexesten Trainingslabore nicht das „hands on-training“ im OP-Saal. Mehrere Studien zeigen, dass dank einer adäquaten Supervision junger Chirurgen im Operationssaal das Maß an chirurgischer Erfahrung keinen Einfluss auf das postoperative Ergebnis hat (13).

Die Ausbildung zum Transplantationschirurgen in Deutschland folgt keinen formellen Richtlinien, sondern erfolgt „en passant“ zusammen mit der viszeralchirurgischen Ausbildung. Unter Berücksichtigung der oben genannten Erkenntnisse haben wir in zwei aufeinanderfolgenden Jahren die an unserem Zentrum durchgeführten Nierentransplantationen (n=184) in Bezug auf die erzielten postoperativen Ergebnisse abhängig vom Erfahrungsgrad des transplantierenden Teams analysiert.

Hierbei wurden die durchgeführten Nierentransplantationen in insgesamt vier verschiedene Gruppen eingeteilt: a) Assistenzärzte mit marginaler Erfahrung mit Nierentransplantationen

(n=5), b) Fachärzte mit geringer Erfahrung mit Nierentransplantationen (mindestens 30 überwachte Nierentransplantationen) (n=4), c) Fachärzte mit mittlerer Erfahrung (mindestens 30 überwachte und 30 selbstständig durchgeführte NTX) (n=5), d) Fachärzte mit großer Erfahrung mit Nierentransplantation (Fallzahl von über 200 selbstständig durchgeführten NTX) (n=2).

Hierbei konnten wir zeigen, dass zwar die Operationsdauer sowie die warme Ischämie-Zeit in den Gruppen der Chirurgen mit der größten Erfahrung signifikant geringer waren. Die Komplikationsrate bzw. die frühen postoperativen Ergebnisse nach Nierentransplantation zeigten jedoch keine signifikante Differenz. Daraus ergibt sich, dass auch in einem Transplantationsprogramm durch eine adäquate Teamzusammensetzung eine sichere Ausbildung junger Chirurgen erfolgen kann, ohne dass die Operationen einen Qualitätsverlust erleiden.

II. 2.2: Loss of liver transplant surgeons into alternate career paths

Die Transplantationschirurgie in Deutschland stellt keine eigene Spezialisierung, sondern ein Teilgebiet der Viszeralchirurgie dar. Dies bedingt eine geringe Anzahl an Endpositionen in diesem Gebiet. Aufgrund dieser strukturellen Vorgaben ist ein langjähriges Engagement in der Transplantationschirurgie eher selten, und Chirurgen verfolgen meist alternative Karrierewege in anderen Subspezialisierungen. Die hierdurch bedingte hohe personelle Fluktuation könnte einen Wissensverlust induzieren sowie einen Einfluss auf die Qualität des Transplantationsprogramms haben.

Wir haben diesbezüglich exemplarisch die Karrieren von 25 Allgemeinchirurgen unseres Zentrums retrospektiv analysiert, die aktiv an unserem Lebertransplantationsprogramm beteiligt waren. Insgesamt wurden die Jahre 1991 bis 2013 berücksichtigt, in denen 729 Lebertransplantationen durchgeführt wurden. In dem beobachteten Zeitraum schieden insgesamt 17 Chirurgen aus dem Lebertransplantationsprogramm aus; acht Chirurgen, bevor sie

selbstständig eine Lebertransplantation durchführen konnten und neun Chirurgen, die selbstständig den Eingriff durchführen konnten.

Die mediane Zeit zwischen der ersten Lebertransplantation und der letzten Lebertransplantation der analysierten Karrieren lag lediglich bei 3.5 Jahren. Die mediane Anzahl an durchgeführten Lebertransplantationen lag bei allen analysierten Karrieren bei 40. Lediglich fünf der Chirurgen, die selbstständig Lebertransplantationen durchführen konnten, wiesen eine individuelle Fallzahl von über 100 durchgeführten Lebertransplantationen auf.

Diese Daten unterstreichen die dringende Notwendigkeit einer anerkannten Subspezialisierung für Transplantationsmedizin. Die Forderung danach fand Eingang in den Bericht der Deutschen Transplantationsgesellschaft zur Lage der Transplantationsmedizin in Deutschland im Jahr 2015.

II. 2.3: A German survey of the abdominal transplantation surgical work force

Um zu klären, ob die beobachteten Ergebnisse lediglich den Gegebenheiten eines individuellen Zentrums entsprechen oder ein nationales Problem darstellen, führten wir im Anschluss eine nationale Umfrage zur chirurgischen Arbeitskraft deutscher Transplantationszentren durch.

Diesbezüglich formulierten wir einen Fragebogen von insgesamt 19 Fragen, welche sich neben demografischen Daten mit der individuellen Erfahrung, dem professionellen Alltag und der Karriereplanung beschäftigten. Diese online-basierte Umfrage wurde an die insgesamt 32 aktiven deutschen Transplantationszentren weitergeleitet.

Insgesamt nahmen 85 Chirurgen an dieser Umfrage teil. Die größte Berufsgruppe stellen Oberärzte mit 60% der eingegangenen Antworten dar.

Die Umfrage zeigte, dass lediglich 17% aller in der Transplantation tätigen Chirurgen eine spezielle Ausbildung (ASTS-Fellowship/ EBS-Diplom) besitzen. Die mittlere individuelle Anzahl geleisteter Transplantationen ist niedrig: 16 Lebertransplantationen, 15 Nierentransplantationen und 3 Pankreastransplantationen. Die meisten befragten Chirurgen würden sich primär als hepato-pankreatiko-biliäre Chirurgen einschätzen. Insgesamt gaben die

befragten Chirurgen an, dass die Transplantationschirurgie lediglich 10% Ihres chirurgischen Alltags ausmache. Es zeigte sich jedoch eine insgesamt hohe Arbeitsbelastung mit durchschnittlich 15 Tagen Rufbereitschaft und einer Arbeitszeit über 66h pro Woche. Als ausgesprochenes Karriereziel gaben die meisten befragten Chirurgen die Position des Chefarztes eines akademischen Lehrkrankenhauses mit Transplantationsprogramm an. Lediglich 62% der befragten Chirurgen würden jungen Kollegen eine Karriere in der Transplantationsmedizin empfehlen. Erklärungen hierfür wurden mit beschränkten Karriereoptionen, einer schlechten Bezahlung, einer schlechten „work-life-balance“ sowie inadäquaten professionellen Strukturen angegeben.

Wir konnten mit dieser Umfrage erstmals ein Bild der Arbeitswelt der Transplantationschirurgie in Deutschland zeigen.

III. Zusammenfassung

Die Transplantation solider Organe stellt heutzutage die Standardtherapie irreversibler Organversagen dar. Trotz immenser Fortschritte im Verständnis und bei der Suppression des Immunsystems sowie der Weiterentwicklung von chirurgischen Verfahren bleibt die Transplantationsmedizin hinter ihrem ausgerufenen Ziel, den Patienten eine Langzeittherapie zu bieten, zurück. Insbesondere das Langzeitüberleben transplanteder Organe konnte in den letzten Jahrzehnten nicht entscheidend verbessert werden. Ursächlich hierfür ist das Auftreten der chronischen Transplantatabstoßung. Dieser schleichende, irreversible Prozess ist gekennzeichnet durch das Auftreten vaskulärer Veränderungen, der sogenannten Transplantatvaskulopathie, die zu einer zunehmenden Minderperfusion des transplantierten Organs führt. Aktuelle immunsuppressive Regime können diesen Prozess nicht verhindern bzw. aufhalten. Die selektive Blockade von p38 bzw. SDF1 in Mausmodellen chronischer Transplantatvaskulopathie erzielte eine signifikante Reduktion der entstehenden Neointimaformation. Die verwendeten Substanzen könnten in Kombinationstherapie zu gängigen immunsuppressiven Regimen eine therapeutische Option darstellen, um das Langzeitüberleben transplanteder Organe maßgeblich zu verlängern. Insbesondere durch die Verwendung der Spiegelmer-Technologie steht hiermit eine neuwertige, nebenwirkungsarme Technologie zur selektiven Hemmung zur Verfügung.

Das Endziel der Transplantationsmedizin stellt die immunologische Toleranz dar. Hierdurch könnte ein Langzeitüberleben transplanteder Organe ohne die Einnahme der teils mit schweren Nebenwirkungen assoziierten Immunsuppressiva erzielt werden. Die Hämoxxygenase-1 katalysiert den geschwindigkeitsbestimmenden Schritt der Degradierung von Häm zu Kohlenmonoxid, freiem Eisen und Biliverdin, welches anschließend erneut über die Biliverdinreduktase zu Bilirubin umgewandelt wird. Diese Produkte zeigen neben antioxidativen und anti-inflammatorischen ebenfalls cytoprotektive Eigenschaften. Die Induktion von HO-1 bzw. die Applikation der Produkte Bilirubin und Kohlenmonoxid zeigen in einer Vielzahl von Pathologien protektive Effekte. Wir konnten nachweisen, dass durch eine Bilirubin- Kohlenmonoxidkombinationstherapie des Empfängers in einem allogenen, murinen

Inselzelltransplantationsmodell ein Langzeitüberleben der Inselzellen erzielt wird. Diese erzielte Toleranz wurde durch eine Anreicherung von Treg-Zellen am Ort der Transplantation erreicht.

Einige Länder haben die Evolution der Transplantationsmedizin zu einer Standardtherapie irreversibler Organversagen in gleicher Weise im klinischen Alltag durch die Entwicklung von Ausbildungskonzepten sowie einem professionellen Umfeld in Transplantationsprogrammen mit entsprechenden Endpositionen begleitet. In Deutschland stellt die Transplantationschirurgie hingegen weiterhin eine Subspezialität der Viszeralchirurgie dar. Das Erlernen der komplexen Transplantationsvorgänge sowie der postoperativen Betreuung dieser speziellen Patientengruppe erfolgt im Rahmen einer viszeralchirurgischen Gesamtausbildung an wenigen Kliniken in Deutschland. Spezielle Ausbildungsprogramme nach nordamerikanischem Vorbild (Fellowship) existieren nicht. Gleiches gilt für einen möglichen Nachweis der erlangten Qualifikation. Die Möglichkeit einer Spezialisierung auf diesem Fachgebiet existiert bis heute nicht. Hierdurch erscheint die Transplantationschirurgie während einer viszeralchirurgischen Gesamtausbildung zwar interessant, jedoch ohne den Ausblick auf eine langfristige Bindung. Dies könnte eine hohe Fluktuation auf dem Gebiet der Transplantationschirurgie bedingen. Gerade in Zeiten eines drohenden Nachwuchsmangels des gesamten chirurgischen Fachgebietes müssen insbesondere in chirurgischen Nebenfächern Konzepte erarbeitet werden, um den chirurgischen Nachwuchs für dieses Fach zu begeistern und langfristig zu binden. Wir konnten zeigen, dass auch in der Transplantationschirurgie eine chirurgische Ausbildung möglich ist, ohne dass Qualitätseinbußen gefürchtet werden müssen. Des Weiteren konnte nachgewiesen werden, dass durch den Mangel an ausreichenden Endpositionen der Transplantationschirurgie eine hohe Fluktuation an Transplantationschirurgen entsteht, wenn voll ausgebildete Chirurgen in leitende Positionen ohne angebundenes Transplantationsprogramm abwandern. Letztlich wurden in einer nationalen Umfrage über die aktuelle Arbeitswelt der Transplantationschirurgie in Deutschland Daten erfasst, die für die geplante Schaffung einer Spezialisierung im Bereich Transplantationsmedizin genutzt werden können. So lassen sich realistische Ziele setzen und entsprechende Forderungen stellen. Hierdurch sollte das Fach der

Transplantationsmedizin aufgewertet werden und erneut an Attraktivität gewinnen. In einem durch Chirurgen maßgeblich geprägten Fach sollte der Chirurg nicht nur für den rein technischen Teilaspekt der eigentlichen Transplantation, sondern auch für die Ausarbeitung einer fundierten Ausbildung für die postoperative Betreuung dieser komplexen Patientengruppe herangezogen werden.

IV. Literatur:

1. Atkinson C, Horsley J, Rhind-Tutt S, et al. Neointimal smooth muscle cells in human cardiac allograft coronary artery vasculopathy are of donor origin. *J Heart Lung Transplant* 2004; 23 (4): 427.
2. Brusko TM, Wasserfall CH, Agarwal A, Kapturczak MH, Atkinson MA. An integral role for heme oxygenase-1 and carbon monoxide in maintaining peripheral tolerance by CD4+CD25+ regulatory T cells. *J Immunol* 2005; 174 (9): 5181.
3. Caforio AL, Tona F, Fortina AB, et al. Immune and nonimmune predictors of cardiac allograft vasculopathy onset and severity: multivariate risk factor analysis and role of immunosuppression. *Am J Transplant* 2004; 4 (6): 962.
4. Choi BM, Pae HO, Jeong YR, Kim YM, Chung HT. Critical role of heme oxygenase-1 in Foxp3-mediated immune suppression. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 327 (4): 1066.
5. Costello JP, Mohanakumar T, Nath DS. Mechanisms of chronic cardiac allograft rejection. *Tex Heart Inst J* 2013; 40 (4): 395.
6. Danovitch GM. Immunosuppressive medications for renal transplantation: a multiple choice question. *Kidney Int* 2001; 59 (1): 388.
7. Futagawa Y, Terasaki PI, Waki K, Cai J, Gjertson DW. No improvement in long-term liver transplant graft survival in the last decade: an analysis of the UNOS data. *Am J Transplant* 2006; 6 (6): 1398.
8. Guba M, Andrassy J, Stangl M, Jauch KW. [Transplantation and hepatic, pancreatic, and biliary (HPB) surgery fellowship--a pilot project for a structured training in Germany]. *Zentralbl Chir* 2014; 139 (3): 271.
9. Hanto DW, Maki T, Yoon MH, et al. Intraoperative administration of inhaled carbon monoxide reduces delayed graft function in kidney allografts in Swine. *Am J Transplant* 2010; 10 (11): 2421.
10. Hillebrands JL, Klatter FA, Rozing J. Origin of vascular smooth muscle cells and the role of circulating stem cells in transplant arteriosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003; 23 (3): 380.
11. Hoellenriegel J, Zboralski D, Maasch C, et al. The Spiegelmer NOX-A12, a novel CXCL12 inhibitor, interferes with chronic lymphocytic leukemia cell motility and causes chemosensitization. *Blood* 2014; 123 (7): 1032.
12. Howard RJ, Kaplan B. The time is now: formation of true transplant centers. *Am J Transplant* 2008; 8 (11): 2225.
13. Jurgaitis J, Paskonis M, Mehrabi A, et al. Controlled-surgical education in clinical liver transplantation is not associated with increased patient risks. *Clin Transplant* 2006; 20 Suppl 17: 69.
14. Kucia M, Jankowski K, Reca R, et al. CXCR4-SDF-1 signalling, locomotion, chemotaxis and adhesion. *J Mol Histol* 2004; 35 (3): 233.
15. Lamb KE, Lodhi S, Meier-Kriesche HU. Long-term renal allograft survival in the United States: a critical reappraisal. *Am J Transplant* 2011; 11 (3): 450.
16. Lee SS, Gao W, Mazzola S, et al. Heme oxygenase-1, carbon monoxide, and bilirubin induce tolerance in recipients toward islet allografts by modulating T regulatory cells. *FASEB J* 2007; 21 (13): 3450.
17. Libby P, Pober JS. Chronic rejection. *Immunity* 2001; 14 (4): 387.
18. Meier-Kriesche HU, Schold JD, Kaplan B. Long-term renal allograft survival: have we made significant progress or is it time to rethink our analytic and therapeutic strategies? *Am J Transplant* 2004; 4 (8): 1289.
19. Meier-Kriesche HU, Schold JD, Srinivas TR, Kaplan B. Lack of improvement in renal allograft survival despite a marked decrease in acute rejection rates over the most recent era. *Am J Transplant* 2004; 4 (3): 378.
20. Nakao A, Faleo G, Nalesnik MA, Seda-Neto J, Kohmoto J, Murase N. Low-dose carbon monoxide inhibits progressive chronic allograft nephropathy and restores renal allograft function. *Am J Physiol Renal Physiol* 2009; 297 (1): F19.

21. Ollinger R, Bilban M, Erat A, et al. Bilirubin: a natural inhibitor of vascular smooth muscle cell proliferation. *Circulation* 2005; 112 (7): 1030.
22. Ollinger R, Thomas M, Kogler P, et al. Blockade of p38 MAPK inhibits chronic allograft vasculopathy. *Transplantation* 2008; 85 (2): 293.
23. Ollinger R, Wang H, Yamashita K, et al. Therapeutic applications of bilirubin and biliverdin in transplantation. *Antioxid Redox Signal* 2007; 9 (12): 2175.
24. Pillot P, Bardonnaud N, Lillaz J, et al. Risk factors for surgical complications after renal transplantation and impact on patient and graft survival. *Transplant Proc* 2012; 44 (9): 2803.
25. Rocuts F, Zhang X, Yan J, et al. Bilirubin promotes de novo generation of T regulatory cells. *Cell Transplant* 2010; 19 (4): 443.
26. Sayegh MH. Looking into the crystal ball: kidney transplantation in 2025. *Nat Clin Pract Nephrol* 2009; 5 (3): 117.
27. Schmauss D, Weis M. Cardiac allograft vasculopathy: recent developments. *Circulation* 2008; 117 (16): 2131.
28. Schmidt CM, Turrini O, Parikh P, et al. Effect of hospital volume, surgeon experience, and surgeon volume on patient outcomes after pancreaticoduodenectomy: a single-institution experience. *Arch Surg* 2010; 145 (7): 634.
29. Shafran D, Kodish E, Tzakis A. Organ shortage: the greatest challenge facing transplant medicine. *World J Surg* 2014; 38 (7): 1650.
30. Shiba Y, Takahashi M, Yoshioka T, et al. M-CSF accelerates neointimal formation in the early phase after vascular injury in mice: the critical role of the SDF-1-CXCR4 system. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007; 27 (2): 283.
31. Soares MP, Bach FH. Heme oxygenase-1 in organ transplantation. *Front Biosci* 2007; 12: 4932.
32. Stehlik J, Edwards LB, Kucheryavaya AY, et al. The Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: Twenty-eighth Adult Heart Transplant Report--2011. *J Heart Lung Transplant* 2011; 30 (10): 1078.
33. Sturm LP, Windsor JA, Cosman PH, Cregan P, Hewett PJ, Maddern GJ. A systematic review of skills transfer after surgical simulation training. *Ann Surg* 2008; 248 (2): 166.
34. Sundaram P, Kurniawan H, Byrne ME, Wower J. Therapeutic RNA aptamers in clinical trials. *Eur J Pharm Sci* 2013; 48 (1-2): 259.
35. Taylor DO, Edwards LB, Boucek MM, et al. Registry of the International Society for Heart and Lung Transplantation: twenty-fourth official adult heart transplant report--2007. *J Heart Lung Transplant* 2007; 26 (8): 769.
36. Thomas M, Angele M, Stangl M, et al. Loss of liver transplant surgeons into alternate career paths. *Transpl Int* 2014; 27 (11): 1120.
37. Thomas M, Rentsch M, Drefs M, et al. Impact of surgical training and surgeon's experience on early outcome in kidney transplantation. *Langenbecks Arch Surg* 2013; 398 (4): 581.
38. Thomas MN, Kalnins A, Andrassy M, et al. SDF-1/CXCR4/CXCR7 is pivotal for vascular smooth muscle cell proliferation and chronic allograft vasculopathy. *Transpl Int* 2015; 28 (12): 1426.
39. Thomas MN, Nadalin S, Schemmer P, et al. A German survey of the abdominal transplantation surgical work force. *Transpl Int* 2015; 28 (7): 849.
40. Tonelli M, Wiebe N, Knoll G, et al. Systematic review: kidney transplantation compared with dialysis in clinically relevant outcomes. *Am J Transplant* 2011; 11 (10): 2093.
41. Turka LA, Lechler RI. Towards the identification of biomarkers of transplantation tolerance. *Nat Rev Immunol* 2009; 9 (7): 521.
42. van den Hoogen P, Huibers MM, Sluijter JP, de Weger RA. Cardiac allograft vasculopathy: a donor or recipient induced pathology? *J Cardiovasc Transl Res* 2015; 8 (2): 106.
43. Waki K, Terasaki PI, Kadowaki T. Long-term pancreas allograft survival in simultaneous pancreas-kidney transplantation by era: UNOS registry analysis. *Diabetes Care* 2010; 33 (8): 1789.

44. Wang H, Lee SS, Dell'Agnello C, et al. Bilirubin can induce tolerance to islet allografts. *Endocrinology* 2006; 147 (2): 762.
45. Wang H, Lee SS, Gao W, et al. Donor treatment with carbon monoxide can yield islet allograft survival and tolerance. *Diabetes* 2005; 54 (5): 1400.
46. Weis M, von Scheidt W. Cardiac allograft vasculopathy: a review. *Circulation* 1997; 96 (6): 2069.
47. Weiss MJ, Madsen JC, Rosengard BR, Allan JS. Mechanisms of chronic rejection in cardiothoracic transplantation. *Front Biosci* 2008; 13: 2980.
48. Williams TE, Jr., Ellison EC. Population analysis predicts a future critical shortage of general surgeons. *Surgery* 2008; 144 (4): 548.
49. Willis D, Moore AR, Frederick R, Willoughby DA. Heme oxygenase: a novel target for the modulation of the inflammatory response. *Nat Med* 1996; 2 (1): 87.
50. Zerneck A, Schober A, Bot I, et al. SDF-1alpha/CXCR4 axis is instrumental in neointimal hyperplasia and recruitment of smooth muscle progenitor cells. *Circ Res* 2005; 96 (7): 784.

V. Originalarbeiten:

Nachfolgend sind die Originalpublikationen des Autors aufgeführt, welche die kumulative Habilitationsleistung darstellen:

- 1) ***SDF-1/CXCR4/CXCR7 is pivotal for vascular smooth muscle cell proliferation and chronic allograft vasculopathy.***

Thomas M., Kalnins A, Andrassy M., Wagner A., Klussmann S., Rentsch M., Habicht A., Pratschke S, Stangl M., Bazhin A., Meiser B., Fischereder M., Werner J, Guba M, Andrassy J. Transpl. Int. 2015, Aug 12. doi: 10.1111/tri.12651; IF 2.599

- 2) ***Blockade of p38 MAPK inhibits chronic allograft vasculopathy.***

Robert Öllinger*, **Michael Thomas***, Pamela Kogler, Martin Hermann, Helmut Weiss, Walter Mark, Martin Bilban, Jakob Troppmair, Fritz H. Bach and Raimund Margreiter. Transplantation 2007(* contributed equally) IF: 3.641

- 3) ***Intraoperative administration of inhaled carbon monoxide reduces delayed graft function in kidney allografts in Swine.***

Hanto DW, Maki T, Yoon MH, Csizmadia E, Chin BY, Gallo D, Konduru B, Kuramitsu K, Smith NR, Berssenbrugge A, Attanasio C, **Thomas M**, Wegiel B, and Otterbein LE. American Journal of Transplantation 2010, 12(9):644-8 IF: 6.048

- 4) ***Bilirubin Promotes De Novo Generation of T Regulatory Cells.***

Rocuts, Fredy; Zhang, Xinyu; Yan, Jun; Yue, Yinan; **Thomas, Michael**; Bach, Fritz H.; Czismadia, Eva; Wang, Hongjun. Cell Transplantation, Volume 19, Number 4, 2010 , pp. 443-451(9) IF: 6.204

- 5) ***Heme oxygenase-1, carbon monoxide, and bilirubin induce tolerance in recipients toward islet allografts by modulating T regulatory cells***

Soo Sun Lee, Wenda Gao, Silvia Mazzola, **Michael N. Thomas**, Eva Csizmadia, Leo E Otterbein, Fritz H.Bach, and Hongjun Wang. FASEB J. 2007 21: 3450-3457 IF: 6.721

- 6) ***Impact of surgical training and surgeon's experience on early outcome in kidney transplantation.***

Thomas M., Rentsch M, Drefs M., Andrassy J., Meiser B., Stangl M., Jauch K.-W. & Guba M.

Langenbecks Archives of surgery, 2013, 398:581–585 IF: 2.16

7) ***Loss of liver transplant surgeons into alternate career paths.***

Thomas M., Angele M., Rentsch M., Pratschke S., Andrassy J., Jauch K.-W., Guba M.

Transpl Int. 2014 Nov;27(11):1120-4. IF: 3.12

8) ***A German survey of the abdominal transplantation surgical work force.***

Thomas M., Nadalin S, Schemmer P, Pascher A, Kaiser GM, Braun F, Becker T, Nashan B,

Guba M. Transpl Int. 2015 Jul;28(7):849-56; IF 2.599